

COMMISSION EUROPEENNE
PROGRAMME STD CONTRAT TS3-CT92-0074

Projet de

**Lutte contre les maladies foliaires de l'arachide en
Afrique de l'Ouest**

Rapport d'activités
Juin 1995 - Novembre 1995

Coordonnateurs Scientifiques
R. SCHILLING/ J. GAUTREAU

B.P. 5035 -34032 Montpellier Cédex 1
Tél. : 67/61/58/78

Rapport semestriel d'activités du Projet

“Lutte contre les maladies foliaires de l'arachide en Afrique de l'Ouest”

Contrat T53 - CT 92 0074 Juin 1995 - novembre 1995

A la fin de la période qui fait l'objet du présent rapport succinct d'activités, le Projet de lutte contre les maladies foliaires de l'arachide se trouve au terme de sa troisième et dernière année d'existence selon le contrat initial. Rappelons que la mise en oeuvre tardive au Burkina Faso du projet sur le terrain (juin 1993, début d'hivernage), pouvait justifier une prolongation du contrat permettant de conduire jusqu'à son terme une quatrième campagne d'expérimentation au champ (1996).

Jusqu'à maintenant la réalisation du projet a donné lieu, dans l'ordre chronologique, aux deux types de rapports suivants, y compris le présent document :

-Premier rapport d'activité	: 11/92 - 05/93
-Premier rapport scientifique annuel	: 06/93 - 06/94
-Second rapport d'activité	: 06/94 - 11/94
-Second rapport scientifique annuel	: 06/94 - 06/95
-Troisième rapport d'activité	: 06/95 - 11/95

Un troisième rapport scientifique concernera la période juin 1995 à juin 1996, le rapport de synthèse final couvrant la pleine durée de réalisation du contrat rappelée ci-dessus (novembre 92 - octobre 96).

Les travaux entrepris au cours des deux premières années du projet et leurs résultats subséquents ont suscité chez les partenaires l'idée de discussions en commun afin de procéder au bilan scientifique et financier du contrat et d'en tirer éventuellement les grands axes d'une démarche conjointe future, y compris dans l'éventualité d'une phase ultérieure d'un projet modifié à proposer à la Commission de Bruxelles. C'est pourquoi des rencontres en ce sens ont eu lieu du 6 au 21 juin 1995 : d'abord au Burkina Faso entre MM Schilling, Subba Rao, Paré et Sankara, ces deux derniers représentant respectivement l'INERA et l'IDR; puis au Muséum d'Histoire Naturelle de Paris entre MM Strange, Subba Rao, Schilling et Abadie. Ces échanges de vue ont été particulièrement utiles pour la suite du projet puisqu'ils ont permis entre autres de s'entendre sur le principe d'une prolongation du contrat dans le but d'améliorer les démarches respectives futures, ceci compte tenu des reliquats de crédits existant. Rappelons qu'une demande de prolongation d'un an a été adressée par le coordonnateur à Bruxelles qui a répondu favorablement : Le terme du contrat est ainsi repoussé jusqu'au 31 octobre 1996, autorisant ainsi

une quatrième année de résultats sur le terrain et un approfondissement des acquis provenant des travaux menés en laboratoires et en serre.

Au cours de ces discussions, les conditions nécessaires à l'élaboration d'un nouveau projet éventuel répondant à l'appel d'offres INCO-DC de 1996 ont été définies, chaque partenaire s'engageant à fournir ses propositions dans son domaine de compétence (cf second rapport scientifique, période juin 1994 - juin 1995) et à les faire parvenir au coordonnateur en temps utile pour la mise en forme. Parallèlement, le principe d'un stage d'un à deux mois à l'ICRISAT-Inde (Hyderabad) pendant la saison de culture a également été dégagé au bénéfice de D. Paré, Mr Subba Rao et le coordonnateur (R. Schilling) se chargeant respectivement de faciliter les démarches auprès de l'ICRISAT et de mettre en place les crédits nécessaires sur les fonds du Projet. Ce stage réalisé du 20 septembre au 12 novembre 1995 (délais de route compris) a porté surtout sur les techniques spécifiques d'étude et d'évaluation des cercosporioses et de la rouille de l'arachide. Signalons aussi qu'un important lot de matériel informatique est en cours de commande pour Mr Paré.

Dans ce qui suit, le présent rapport semestriel d'activité fait d'abord état des expérimentations mises en place au Burkina Faso durant la saison agricole 1995, avant-dernière campagne d'expérimentation au champ du projet en cours, puis des travaux menés au Muséum d'Histoire Naturelle de Paris (annexe 1) et à l'University College de Londres (annexe 2). Le CIRAD assure la coordination du Projet ainsi que l'appui scientifique et logistique au phytopathologiste de l'INERA, Mr Subba Rao étant chargé de cet appui scientifique.

Burkina Faso : Activités de terrain

Les expérimentations et observations réalisées durant la campagne 1995 concernent les principaux thèmes déjà abordés pendant les deux campagnes précédentes. Si la démarche en stations reste surtout cantonnée dans le Sud-Ouest (Niangoloko et Farakoba) , mais sans exclusive, l'observation de la sévérité et de l'incidence des maladies foliaires s'est étendue récemment à travers tout le pays par le biais d'enquêtes en parcelles paysannes, compte tenu de l'extension géographique de l'aire de la rouille et des cercosporioses. Certains essais de 1994 ont été reconduits cette année du fait d'une faible pression parasitaire qui ne permet pas de discriminer nettement les divers traitements tant au point de vue des échelles de notation que des productions de gousses et de fanes. C'est pourquoi il a été prévu d'inclure dans certains essais des lignes de plantes infestantes pour augmenter artificiellement le niveau de parasitisme. En 1995, les semis ont été réalisés en juin et juillet, selon les cycles (90, 120 et 140 jours) à Niangoloko (Sud-Ouest) et courant juillet dans les autres sites (Centre, Nord et Est).

-Emprise géographique et pression parasitaire

La rouille à l'origine circonscrite essentiellement dans le Sud-Ouest du pays a confirmé en 1994 et 1995 sa présence sur tout le territoire. Les champs paysans retenus se situent dans un rayon de 15 km autour des localités choisies à l'échelle du pays. Les observations sont faites à diverses dates entre la floraison et la maturation et portent simultanément sur les deux cercosporioses et sur la rouille. Les évaluations de la pression parasitaire se font en station (Kouaré) et en milieu paysan (Fada N'Gourma) en utilisant les méthodes de notations ICRISAT.

-Etudes épidémiologiques sur rouille et cercosporioses

Elles sont réalisées dans le Sud-Ouest du pays, d'une part sur 3 variétés de cycle long ou intermédiaire dont on évalue les niveaux de résistance vis-à-vis des 3 maladies étudiées, et d'autre part sur des variétés de tous cycles semées à différentes dates chez lesquelles on mesure l'incidence des cercosporioses et de la rouille à divers stades phénologiques.

-Survie des propagules de cercosporiose d'une campagne à la suivante

On a montré que les débris végétaux de l'année précédente pouvaient constituer des supports aptes à la propagation de la cercosporiose. Dans le dispositif expérimental adopté, des feuilles sèches d'arachide conservées d'une année sur l'autre en laboratoire ont été réhumidifiées et utilisées selon diverses modalités comme sources d'inoculum primaire dans un essai split-plot à 5 variétés (échelle de lecture ICRISAT, région sud-ouest).

-Méthodes de lutte

Plusieurs sous-thèmes sont abordés dans ce chapitre important et ont donné lieu à diverses expérimentations dans le Sud-Ouest du Burkina . Il s'agit de :

-l'effet du mode de préparation du terrain sur l'inoculum primaire des

cercosporioses (culture à plat ou en billons ce qui signifie dans ce dernier cas l'enfouissement des résidus de culture),

- l'intérêt d'un seuil critique de sévérité de la rouille pour l'opportunité d'un traitement chimique (on cherche à s'affranchir des traitements à déclenchements programmés au profit d'interventions moins nombreuses mais plus efficaces et économiques à partir d'un état donné de parasitisme),

- l'effet des traitements chimiques à des dates pré-établies d'intervention (c'est en somme l'inverse de la démarche précédente, dans un souci de simplification en vue de la vulgarisation),

- la comparaison de l'efficacité de diverses formulations sous différentes présentations, parmi lesquelles des produits déjà éprouvés et des formules nouvelles.

COMMISSION EUROPEENNE
PROGRAMME STD CONTRAT TS3-CT92-0074

Projet de

**Lutte contre les maladies foliaires de l'arachide en
Afrique de l'Ouest**

Rapport d'activités
Juin 1995 - Novembre 1995

Coordonnateurs Scientifiques
R. SCHILLING/ J. GAUTREAU

B.P. 5035 -34032 Montpellier Cédex 1
Tél. : 67/61/58/78

ANNEXE 1

Muséum national d'Histoire Naturelle

RAPPORT SEMESTRIEL

CONTRAT CEE TS3-CT92-0074

MNHN - EPHE, Paris.

Avancement des travaux pour la période du 1er Juillet 1995 au 1er Janvier 1996.

Nous nous étions fixé comme objectif d'aboutir, au cours de cette période, à la maîtrise totale de l'observation en continu, au MET, de toutes les séquences du développement de *Puccinia arachidis* (jusqu'ici ébauchées à titre expérimental). La réalisation devait se faire à partir de plants d'arachides sensibles, cultivés sous enceinte. Ces plants devaient pouvoir être contaminés expérimentalement selon un protocole non traumatisant, à partir d'urédospores pures obtenues en permanence au Laboratoire.

Le but était d'obtenir assez de documents électroniques précis et de qualité pour arriver à une excellente "couverture" de l'ensemble de ces phénomènes et disposer d'une source d'information capitale pour le développement à venir du programme.

Cet objectif, déjà partiellement développé dans notre précédent rapport, est actuellement atteint.

Toutefois, la décision de réaliser pleinement cette démarche déjà bien engagé par des travaux d'approche assez poussés ne s'est imposée à nous qu'après une longue et délicate réflexion scientifique dans la mesure où cette recherche apparaissait, dans un premier temps, comme superflue, voire inutile: CHONG et Col. en 1985 et 1986, avec *Puccinia graminis* et plus encore MINS et Col. en 1989 avec *Puccinia arachidis* ont, en effet, exploré avant nous le même thème...

L'ambition et la finalité de ces excellents travaux restant, d'une part, limitée à l'étude serrée, au MET, des phénomènes classiques liés aux premiers stade du développement du champignon parasite et, d'autre part, l'étude du processus de pénétration dans les premières cellules de l'hôte n'intégrant pas véritablement la dimension de la plante entière, parasitée, nous avons considéré que le champ restait largement ouvert.

Cette démarche restait donc, dans le cadre de notre programme de recherche, **une étape fondamentale que nous devons nécessairement entreprendre et mener à bien dans sa totalité.**

Sa réalisation nous met, aujourd'hui, en situation d'aborder avec un maximum de connaissances à la fois structurales et cytochimiques, la dynamique de la relation hôte-parasite dans sa véritable dimension, durant les premiers jours de l'infection, jusqu'à la production des sores. Elle nous permet de démarrer une nouvelle phase de recherche qui va s'articuler autour des connaissances acquises par l'équipe de Londres sur les processus de défense chimiques de différentes variétés d'arachides, notamment

par la production de phytoalexines et de leur possible localisation cytochimique dans les tissus de l'hôte.

4 variétés ciblées (2 sensibles : P 29 et G 119-20 et 2 résistantes : P 9 et P 34, plus une intermédiaire, Fleur 11), ont été sélectionnées directement à partir des derniers développements des travaux sur la production des phytoalexines. C'est finalement sur ce matériel que nous avons axé l'essentiel de notre effort de recherche.

Nous possédons actuellement toutes les séquences essentielles concernant le développement du parasite: que ce soit au niveau de la formation de la spore, de sa germination, de la différenciation de l'appressorium, du filament d'infection puis de la cellule haustoriale. Toutes ces étapes sont parfaitement **répertoriées**: elles représentent plus de 600 clichés électroniques MET. Elles ont été la source d'observations nouvelles qui viennent en complément de celles déjà obtenues par les auteurs cités.

- nous avons étudié tout particulièrement les relations du filament germinatif avec la surface du limbe inférieur de la plante-hôte ainsi que celle de l'appressorium avec les lèvres du stomate.

- nous avons tenté de déterminer quelle pouvait être la filiation structurale entre la paroi de l'appressorium et celle, très élaborée, du filament d'infection qui apparaît après le premier cloisonnement de ce dernier lors de son entrée dans la chambre sous-stomatale.

Nos premières observations caryologiques ont été également reprises et améliorées en microscopie de fluorescence, à l'aide du DAPI.

Les parties essentielles du limbe de la plante-hôte concernées par le développement du parasite ont été elles-aussi particulièrement étudiées à la fois du point de vue de leur organisation structurale cellulaire externe et interne et aussi sous l'angle des modifications éventuelles susceptibles d'apparaître lors de la pénétration puis de l'installation du parasite dans les tissus sous-épidermiques.

- nous savons qu'il existe une bonne raison pour que le parasite se développe de préférence sur la face inférieure des feuilles d'arachide du fait de la présence d'une substance de nature glyco-polysaccharidique qui recouvre la cuticule à cet endroit et qui est absente sur l'épiderme supérieur, ce que nous pouvons démontrer.

Au niveau du filament d'infection, nous observons que sa trajectoire est beaucoup plus sous l'influence de chimiotactismes positifs qu'il ne semble y paraître à la lumière des travaux déjà cités. Ces substances sont maintenant caractérisées cytochimiquement. D'autre part, contrairement à l'opinion généralement admise, la "descente" du filament d'infection se fait en droite ligne, selon un géotropisme négatif, de la face inférieure de la feuille en direction des grandes cellules basales du parenchyme palissadique et non en direction des cellules géantes sous-épidermiques voisines, contre lesquelles il peut parfois cheminer sans entamer de processus de dissolution au point de contact.

Le processus de pénétration du matériel cellulaire de la cellule mère de l'haustorium à travers la paroi de la cellule cible sous-palissadique a été saisi et analysé tant au niveau de la configuration générale de l'élément perforant que de celui, plus particulier, de la cellule haustoriale interne, proprement dite. Toutefois, des problèmes ultrastructuraux persistent concernant cette même cellule haustoriale parasite: ceux-ci sont essentiellement liés à la capacité reconnue de la paroi de cette

cellule de se déployer à l'intérieur de la cellule-hôte selon une géométrie très caractéristique. Or, les divergences actuelles sur la réalité de ce phénomène singulier et sa signification physiologique nous obligent à de nouvelles recherches sur ce sujet.

- celles-ci vont être reprises sur de nouvelles bases faisant intervenir notamment, divers paramètres importants (isotonie sélective à la fixation, pH et point isoélectrique de précipitation, action enzymatique etc.).

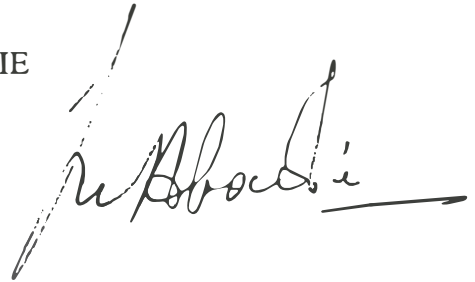
Il est important, pour l'étude que nous allons maintenant entreprendre au MET sur l'éventualité d'une production tissulaire matérialisable de sécrétions phénoliques et de molécules quinoniques en réaction à la présence du parasite, que de telles particularités anatomiques et leur signification physiologique soient clairement établies.

Pour compléter ce rapport d'activité, nous rappellerons que Mr. Philippe SANKARA est venu travailler, sous notre direction, au Laboratoire durant 2 semaines, en décembre 1995.

Au cours de ce bref séjour, le programme principal de contaminations expérimentales prévu sur les nouvelles variétés d'arachides définitivement sélectionnées à la lumière des résultats obtenus à Londres, n'a pu véritablement être lancé du fait d'un déficit momentané dans la production des urédospores au Laboratoire, déficit engendré par les conditions climatiques minimales du moment. Avec le retour à la normale, un nouveau stage est prévu courant 1996 au cours duquel seront notamment mises au point les publications actuellement en préparation sur tous les aspects des résultats positifs de nos recherches.

A Paris, le 25 mars 1996

Michel ABADIE



BIBLIOGRAPHIE

J. Chong, D. E. Harder, et R. Rohringer. - 1985. Cytochemical studies on *Puccinia graminis* f. sp. *tritici* in a compatible wheat host. I. Walls of intercellular hyphal cell and haustorium mother cells. Can. J. Bot. 63, 1713-1724.

J. Chong, D. E. Harder, et R. Rohringer. - 1986. Cytochemical studies on *Puccinia graminis* f. sp. *tritici* in a compatible wheat host. II. Haustorium mother cell walls at the host cell penetration site, haustorial walls, and the extrahaustorial matrix. Can. J. Bot., 64, 2561-2575.

C. W. Mims, J; Taylor, et E. A. Richardson. - 1989. Ultrastructure of the early stages of infection of peanut leaves by the rust fungus *Puccinia arachidis*. Can. J. Bot. 67, 3570-3579.

ANNEXE 2

University College London

Defence Mechanisms of Groundnut (*Arachis hypogaea* L.) to Foliar Pathogens

Semesterial Report (1995)

P V Subba Rao and R N Strange

Department of Biology

University College London

A technique has been developed to elicit phytoalexins in groundnut leaves using salicylic acid as a foliar spray. The effectiveness of salicylic acid as an elicitor approached that of infection with *Cercospora arachidicola* raising the possibility of using this abiotic elicitor to screen cultivars for their phytoalexin response. Results of the experiments involving salicylic acid and comparison of its elicitor activity with that of *Puccinia arachidis*, *Phaeoisariopsis personata*, *Cercospora arachidicola* and *Frankliniella* spp. were presented as a poster at the British Society for Plant Pathology Meeting held at the University of Warwick between 12 and 15 December 1995.

In cooperation with Dr Philippe Sankara, 50 samples from rust-infected leaves from Burkina Faso have been analysed by HPLC in order to study the genotypic variability in producing phytoalexins. A compound having UV spectra similar to that of an isoflavanone and a retention time of 9.13 min. has been found to be one of the major components of the phytoalexin response in resistant genotypes. Experiments are in progress to isolate this compound, identify and quantify it in different groundnut genotypes.

Experiments are also in progress to quantify five phytoalexins, formononetin, daidzein, medicarpin and 7,4'-dimethoxy-2'-hydroxyisoflavanone in two groundnut genotypes (one disease-resistant and one disease susceptible) at 48 h, 6 days, 15 days and 25 days after inoculation with *P. arachidis*.